



(19) RU (11) 2 191 382 (13) C2  
(51) Int. Cl. 7 G 01 N 33/48

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 97103755/14, 13.03.1997

(24) Effective date for property rights: 13.03.1997

(30) Priority: 02.02.1996 US 08/595,719

(43) Application published: 20.04.1999

(46) Date of publication: 20.10.2002

(98) Mail address:  
129010, Moskva, ul. B. Spasskaja 25, str.3,  
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i  
Partnery", Ju.D.Kuznetsov

(71) Applicant:  
ORTO-KLINIKAL DIAGNOSTIKZ, INK. (US)

(72) Inventor: MILChANOSKI Val'ter (US),  
DZhORIK Milan (US), RAJS Kehtlin Dzh.  
(US), BEKhTOL'D Dajan E. (US), DEhVIS Linda  
(US), SETKEhVEhDZh Tomas M. (US), DEhVIS  
Donal'd M. (US)

(73) Proprietor:  
ORTO-KLINIKAL DIAGNOSTIKZ, INK. (US)

(74) Representative:  
Emel'janov Evgenij Ivanovich

(54) VESSEL TO CONDUCT QUANTITATIVE DETERMINATION OF AGGLUTINATION ( VARIANTS )

(57) Abstract:

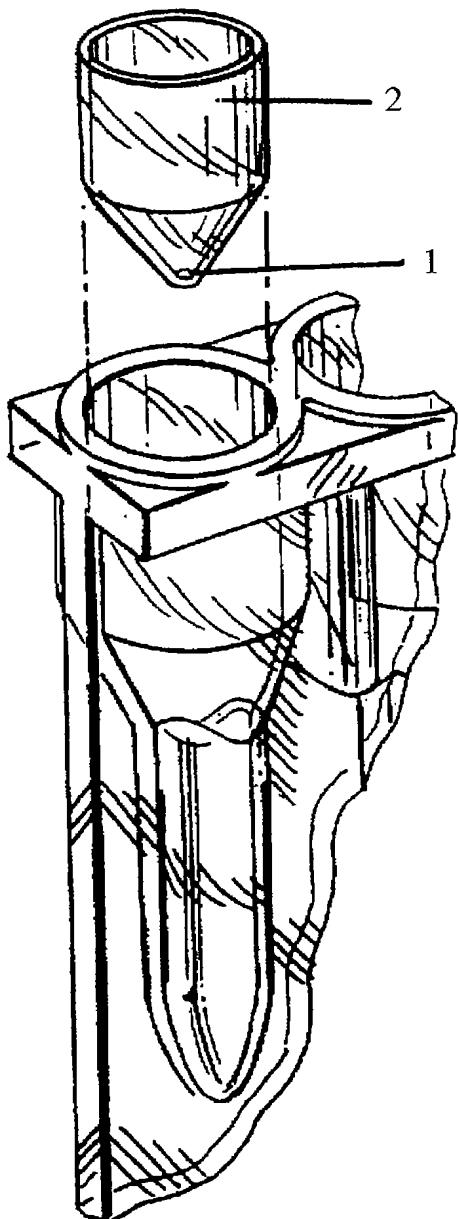
FIELD: quantitative determination of agglutination and separation of agglutinates. SUBSTANCE: in correspondence with one variant vessel to conduct quantitative determination of agglutination has upper chamber with hole to intake liquid reagents, lower chamber designed to take in liquid from upper chamber and carrying matrix for separation of agglutinates, barrier separating upper chamber from lower chamber and carrying fixture to hold liquid

in upper chamber under conditions of normal gravitational force and atmospheric pressure. Barrier can secure passage of liquid from upper chamber to lower chamber under effect of pressure exceeding atmospheric pressure. Variants of invention differ by manufacture of barrier: in the form of spiral insert, spiral structure, diaphragm, porous plug. EFFECT: separation of sample and reagents, prevention of mixing of materials contained in vessel. 12 cl, 15 dwg, 11 tbl

R  
U  
2  
1  
9  
1  
3  
8  
2  
  
C  
2

R  
U  
? 1 9 1 3 8 2 C 2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2



Фиг. 1

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

Эта заявка является частично продолжающей заявку на патент США под серийным N 08/093106, поданную 16 июля 1993 г., которая является продолжением заявки на патент США под серийным N 08/092157, поданной 15 июля 1993 г., и в настоящее время аннулированной.

Предпосылки изобретения

Это изобретение относится к области количественных определений агглютинации и, в частности, к сосудам, используемым для проведения количественных определений агглютинации и отделения агглютинатов.

Серология групп крови требует определения совместимости клеток крови между донором и реципиентом крови перед трансфузией или трансплантацией органов пациенту. Совместимость клеток крови определяется отсутствием иммунологической реакции между антителами, содержащимися в сыворотке крови пациента, и антигенами, присутствующими на клетках крови от донора.

На поверхности эритроцитов каждого человека обнаруживается много различных антигенов групп крови. Определение группы крови, в целом, представляет собой процесс тестирования эритроцитов для определения, какие антигены присутствуют и какие отсутствуют. Это обычно осуществляется с помощью антител известной специфичности.

Для выявления антител в сыворотке или плазме пациента реактивы, содержащие клетки крови, имеющие известные антигены, смешиваются с образцом сыворотки. Реактивы инкубируются в течение периода времени, достаточного для обеспечения агглютинации эритроцитов, которая происходит, когда присутствуют антитела против тех антигенов. Затем смесь центрифугируется, и если агглютинированные клетки крови присутствуют, такие агглютинаты отчетливо видны на дне реактора, указывая таким образом на присутствие антител в образце, направленных против известных антигенов на эритроцитах. Если в образце не присутствуют антитела, направленные против известных антигенов на эритроцитах, агглютинация не происходит, и на это указывает отсутствие агглютинированных эритроцитов после центрифугирования.

Недавно были разработаны системы, в которых реакция агглютинации проводится в одной части сосуда, а отделение агглютинированных эритроцитов происходит в другой части того же сосуда с помощью матрицы, которая отделяет агглютинированные клетки от других компонентов в смеси реагент/образец. Одна такая система раскрыта в описании в одновременно рассматриваемых заявках на патент США N 08/407747 и 08/112402, которые являются продолжением заявки на патент США серийного N 08/023500, в настоящее время аннулированной, причем обе заявки являются собственностью владельца данной заявки. Содержание каждой из этих заявок включено в эту заявку в виде ссылок. Сосуды для проведения реакции агглютинации и отделения агглютинатов в соответствии с настоящим изобретением и используемые также в изобретениях, раскрытых в упомянутых выше заявках, изготавливаются и продаются компанией "Ortho Diagnostic Systems Inc.", Raritan, New Jersey, под торговой маркой

BIOVUE™. Такие реакционные сосуды изготавливаются в форме колонки, имеющей верхнюю камеру и нижнюю камеру, где верхняя камера имеет более широкий диаметр, чем нижняя камера. Нижняя камера содержит матрицу для отделения агглютинированных клеток от неагглютинированных клеток. Диаметр нижней камеры достаточно узок, настолько, что когда реактивы и пробы добавляются в верхнюю камеру, обычно с помощью пипетки, реактивы и образцы остаются в верхней камере и не поступают в нижнюю камеру до тех пор, пока не прикладывается дополнительная сила.

Непрямая антиглобулиновая проба, известная как проба Кумбса, представляет собой анализ крови, используемый для определения наличия в сыворотке пациента IgG антител к определенным антигенам на поверхности эритроцитов. При пробе Кумбса сыворотка инкубируется в присутствии участников в реакции эритроцитов для обеспечения возможности связывания антител с антигенами на поверхности эритроцитов. Эти IgG антитела чаще всего сами по себе не агглютинируют эритроциты или агглютинируют лишь недостаточно для визуального выявления с помощью обычных методик. Для содействия видимой агглютинации обычно необходимо добавление второго антитела, направленного против IgG человека.

Для типирования эритроцитов при анализе крови, используемом для определения, присутствуют ли определенные антигены на поверхности эритроцитов, анализируемые эритроциты добавляют в верхнюю камеру с последующим приложением силы, такой как, например, центробежная сила, которая перемещает их в нижнюю камеру, содержащую антитела, к определенным антигенам эритроцитов, и разделительную матрицу. Если эритроциты на своей поверхности имеют антиген(ы), способные соединяться со специфическими антителами в нижней камере, то будут образовываться агглютинаты и отделяться матрицей.

При других типах анализов крови, таких как обратное типирование, при которых в сыворотке пациента производится количественное определение вызывающих прямую агглютинацию антител против антигенов эритроцитов, сыворотка пациента и реагент в виде эритроцитов с известными антигенами на их поверхности добавляются в верхнюю камеру, и прилагается сила, такая как, например, центробежная сила, которая перемещает реактивы в нижнюю камеру, содержащую жидкую среду и разделительную матрицу, но не антитело. При этом количественном определении присутствие в сыворотке пациента антител, вызывающих прямую агглютинацию, приведет к образованию агглютинатов, которые будут отделены матрицей.

Еще при одном типе анализа крови реагент в виде антитела с известной специфичностью к антигену эритроцитов помещается в верхнюю камеру вместе с эритроцитами пациента. Если антитело-реагент является антителом, вызывающим прямую агглютинацию, сила, такая как, например, центробежная сила, должна быть приложена без предшествующей

C 2 1 9 1 3 8 2 C 2  
RU

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

инкубации, и содержимое под действием силы должно перемещаться в нижнюю камеру, содержащую разделительную матрицу в водном растворе. Затем с помощью матрицы должны отделяться агглютинаты. Альтернативно, эритроциты пациента помещаются в верхнюю камеру и добавляется реагентное IgG антитело с известной специфичностью с последующей инкубацией для обеспечения возможности прикрепления антитела к предположительным антигенам на поверхности эритроцитов. После инкубации прикладывается сила, такая как, например, центробежная сила, которая перемещает реактивы в нижнюю камеру, содержащую разделительную матрицу и анти-IgG антитела, специфичные для реагентного IgG антитела, используемого для инкубации эритроцитов в верхней камере. Если реагентное антитело присутствует на поверхности клеток пациента, анти-IgG антитело в нижней камере будет способствовать образованию агглютинатов, которые будут отделены матрицей.

После того, как образцу и реактивам была предоставлена возможность инкубации в течение достаточного периода времени для обеспечения либо прямой агглютинации, как в случае пробы типирования эритроцитов, или реакции антител-антител, как в случае пробы Кумбса, сосуд, где происходит реакция, подвергается воздействию давления, например, посредством центрифугирования, так, что реактивы вытесняются в нижнюю часть колонки и на разделительную матрицу. В результате центрифугирования неагглютинированные материалы мигрируют вниз через разделительную матрицу, тогда как агглютинированные клетки остаются на верхней части разделительной матрицы или распределяются внутри матрицы в зависимости от степени агглютинации. Более сильные реакции агглютинации приводят к тому, что клетки остаются по направлению к верхней части разделительной матрицы, тогда как более слабые реакции агглютинации приводят к распределению агглютинатов на различные расстояния от поверхности матрицы.

Задержка образца и реактивов в верхней части колонки во время фазы инкубации является результатом поверхностного натяжения, действующего через верхний край нижней части колонки, где диаметр уменьшен относительно верхней части. Были установлены два потенциальных источника ошибки при проведении анализа с помощью колонки. Во-первых, если реактивы и образец пипетируются прямо вниз по центру реактивной камеры с избыточной силой, реактивы могут осаждаться прямо на верхушке разделительной матрицы в нижней камере и не задерживаться в верхней камере во время фазы инкубации. Таким образом, реактивы начнут поступать в разделительную матрицу перед завершением агглютинации. Во-вторых, есть возможность того, что растворитель или раствор, который содержит разделительную матрицу, может поступить в верхнюю камеру. Это может произойти в результате забрызгивания или других нарушений, например во время транспортировки и использования сосудов.

В некоторых случаях, когда раствор или

растворитель, содержащий разделительную матрицу, также содержит антитела или другие реактивы, которые непосредственно влияют на результат теста, такое забрызгивание может привести к перекрестному загрязнению колонок определенными реактивами из других колонок. Это может произойти, когда пользователь вставляет кончик пипетки в реактивную камеру, загрязняющую кончик разбрзганным реактивом, который может затем переноситься пипеткой в другой сосуд. Это может привести к ложным результатам при анализе агглютинации.

Таким образом, задачей настоящего изобретения является создание усовершенствованного механизма для поддержания разделения образца и реактивов во время фазы инкубации анализа агглютинации. Еще одной задачей изобретения является создание средства предотвращения смешения материалов, содержащихся в нижней части колонки.

**Сущность изобретения**  
Настоящее изобретение предоставляет усовершенствованный сосуд для проведения реакции агглютинации и отделения агглютинатов. Сосуд включает верхнюю камеру, которая содержит реакенты, нижнюю камеру, в которой отделяются агглютинаты, барьерное средство, разделяющее камеры, которое способно задерживать реактивы в верхней камере перед введением содержимого верхней камеры в разделительную матрицу и позволяет содержимому верхней камеры пройти из верхней камеры в нижнюю камеру, когда на барьер воздействует сила (т. е. превышающая атмосферное давление).

В предпочтительном варианте исполнения барьер включает суженный проход между верхней и нижней камерами. Такой суженный проход может обеспечиваться вкладышем, имеющим суженное отверстие, с помощью сгиба или прокладки, имеющей спиральную или другую аналогичную конфигурацию, которая может быть спрессована или вставлена между верхней и нижней камерами во время изготовления. Такой вкладыш обеспечивает физический барьер, который уменьшает размер отверстия между нижней камерой и верхней камерой, увеличивая предотвращение загрязнения верхней камеры содержимым нижней камеры. Далее вкладыш также усиливает разделение образца и реактивов во время инкубации. Когда вкладыш представляет собой спираль, проход, определяемый резьбой, центральным стержнем и стенками колонки, достаточно мал для предотвращения стекания жидкости из верхней камеры под влиянием силы тяжести и атмосферного давления. Например, диаметр спирального вкладыша находится в диапазоне приблизительно от 0,110 до 0,140 дюйма (0,28-0,38 см). Диаметр стержня спирального вкладыша составляет приблизительно от 0,030 до 0,090 дюйма (0,08-0,23 см). Спиральный вкладыш имеет приблизительно от 6 до 30 витков резьбы на дюйм (на 2,54 см).

Суженный проход может также обеспечиваться ультразвуковой сваркой колонки, которая производится после загрузки колонки реактивами. Проход может, кроме того, содержать барьер в форме диафрагмы. В этом варианте изобретения диафрагма

R U ? 1 9 1 3 8 2 C 2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

? 1 9 1 3 8 2 C 2

имеет центральную перфорацию, достаточно маленькую для предотвращения стекания жидкости из верхней камеры под влиянием силы тяжести и атмосферного давления. Диафрагма предпочтительно представляет собой силиконовую резину. Проход может, кроме того, содержать барьер в форме пористой заглушки. Пористая заглушка имеет проходы через нее достаточно маленькие для предотвращения стекания жидкости из верхней камеры под влиянием силы тяжести и атмосферного давления. Пористая заглушка предпочтительно представляет собой полипропилен.

Еще в одном варианте исполнения изобретение содержит прокладку, которая принимает форму конического элемента, имеющего отверстие через суженную верхушку. Помещенная в верхнюю часть и простирающаяся в колонку реактора такая прокладка перед введением с помощью пипетки образца в сосуд предотвратит перекрестное загрязнение вследствие попадания растворителя или раствора из одного сосуда в другой сосуд, тогда как в противном случае во время такого введения с помощью пипетки может произойти перекрестное загрязнение. Указанная прокладка удобно вставляется в верхнюю часть колонки конечным пользователем перед введением реактивов с помощью пипетки. Прокладка может принимать форму единого блока, имеющего шесть конических элементов или ячеек, расположенныхных бок-о-бок; общая площадь и форма прокладки такие же, как и у верхней стороны кассеты BIOVUE™.

Прокладка включает корпус и по крайней мере один конический элемент, зависящий от него, в котором указанный конический элемент имеет отверстие в его суженной верхушке, и герметизирующее приспособление, расположённое в позиции, отделенной от указанной суженной верхушки. Конический элемент содержит первый конец, содержащий указанную суженную верхушку, и второй конец, отделенный от него и примыкающий к корпусу, в котором указанное герметизирующее приспособление расположено на или примыкает к второму концу.

Герметизирующее приспособление включает уплотнительное кольцо, окружающее указанный конический элемент, и уплотнительное кольцо может быть объединено с указанным коническим элементом. В предпочтительном варианте исполнения прокладка имеет шесть конических элементов, линейно зависимых от корпуса, и размер прокладки подобран таким образом, чтобы подходит для реакторов кассеты. Прокладка предпочтительно изготовлена из акриловой смолы.

Изобретение далее предполагает уплотненную прокладкой из фольги кассету, содержащую шесть реакционных сосудов, расположенных в ней в линию, и прокладку, включающую корпус и шесть линейно зависимых от нее конических элементов, в которой конические элементы включают суженную верхушку, приспособленную для прокола указанного уплотнения с прокладкой из фольги и при вставлении такая прокладка входит во фрикционное зацепление с указанной кассетой так, чтобы

герметизировать соединение между кассетой и вкладышем. Приспособлением для герметизации соединения являются уплотнительные кольца, окружающие каждый из конических элементов и предпочтительно являющиеся составной частью каждого из конических элементов.

Краткое описание чертежей

На фиг.1 показан сосуд для проведения реакции и отделения агглютинатов с имеющим узкое отверстие вкладышем, помещенным в верхнюю камеру для проведения реакции.

Фиг.2 представляет вид сверху кассеты шести сосудов, где происходит реакция, на которой четыре сосуда показаны без вкладыша, и один сосуд (второй слева), содержащий вкладыш, показанный на фиг.1, и один сосуд (третий слева) иллюстрирует содержание реагента.

Фиг. 3 представляет поперечное сечение кассеты реакционных сосудов по линии 3-3 фиг.2.

Фиг.4 представляет вид сбоку кассеты реакционных сосудов.

Фиг.5 представляет поперечное сечение вдоль линии 5-5 фиг.2, показывающее вкладыш с узким отверстием внутри верхней камеры реакционного сосуда.

На фиг.6 показана верхняя камера реакционного сосуда, сконструированная с узким отверстием,

На фиг. 7 показан вкладыш, имеющий выступающую часть с отверстием, расположенный в нижней камере.

Фиг.8 представляет поперечное сечение вдоль линии 8-8 фиг.3.

На фиг.9 показан сосуд для проведения реакции и отделения агглютинатов, который был изогнут непосредственно под верхней камерой.

Фиг.10 представляет поперечное сечение вдоль линии 10-10 фиг.9.

Фиг. 11 представляет вид сбоку сосуда для проведения реакции и отделения агглютинатов со спиральным вкладышем 1, помещенным в верхнюю камеру 2, причем нижняя часть 3 верхней камеры модифицирована для размещения указанного вкладыша.

Фиг. 12 представляет вид сбоку конфигураций спиральных вкладышей; (A) иллюстрирует вкладыш, имеющий общий диаметр (1)=0,120 дюйма (0,3 см), и внутренний стержень, имеющий диаметр (2)=0,060 дюйма, 0,15 см); (B) иллюстрирует вкладыш, имеющий общий диаметр (1)=0,120 дюйма (0,3 см), и внутренний стержень, имеющий диаметр (2)=0,080 дюйма (0,2 см).

На фиг.13 показан вид сбоку спирального вкладыша, имеющего общий диаметр (1)=0,120 дюйма (0,3 см), и внутренний стержень, имеющий диаметр 0,060 дюйма (0,15 см).

На фиг.14 показана одна ячейка прокладки, сконструированная для обеспечения возможности помещения в верхнюю камеру колонки реакционного сосуда. Каждый конический элемент или ячейка имеет уплотнительное кольцо 1, расположенное вокруг ячейки ниже корпуса прокладки.

На фиг.15 показана прокладка, включающая шесть конических элементов или ячеек, имеющих заостренные верхушки,

Р У 2 1 9 1 3 8 2 0

2 1 9 1 3 8 2 C 2

предназначенные для помещения в верхние камеры кассеты, имеющей шесть колонок реакционных сосудов. Каждый элемент имеет уплотнительное кольцо 1, окружающее элемент нижне корпуса прокладки. Кроме того, каждый элемент имеет верхушку 2, приспособленную для прокалывания уплотнительной прокладки из фольги, покрывающей колонки реакционных сосудов в кассете.

#### Описание изобретения

В соответствии с настоящим изобретением, сосуды для проведения реакций агглютинации и отделения агглютинатов будут описаны с точки зрения различных вариантов исполнения. Определенные варианты исполнения изобретения можно ясно понять из описания сосудов для проведения реакций агглютинации и отделения агглютинатов, которые изготавливаются и продаются компанией "Ortho Diagnostic Systems Inc.", Raritan, New Jersey, под торговой маркой BIOVUE™.

Сосуды настоящего изобретения могут быть изготовлены из любого подходящего материала, который не будет мешать реакции агглютинации или отделению агглютинатов и зрительной оценке результатов, такого как стекло или различные пластики. В предпочтительном варианте исполнения сосуды изготовлены из полипропилена.

Верхняя камера сосуда может быть любой формы и размера, пригодных для удерживания реагентов и образца в то время, пока проводится инкубация. Обычно, верхняя камера имеет цилиндрическую форму в своей самой верхней части. Барьер между верхней и нижней камерами обычно определяет нижнюю границу верхней камеры и верхнюю границу нижней камеры. В предпочтительном варианте исполнения барьер, который образует нижнюю часть верхней камеры, имеет форму конуса с верхушкой, простирающейся по направлению или внутрь нижней камеры, как показано на любой из фиг.1, 5, 6, 7. Часть барьера сконструирована таким образом, чтобы удерживать реагенты и образец в верхней камере во время инкубации в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, в то же время обеспечивая возможность перетекания жидкости из первой камеры во вторую камеру, когда прилагается сила, такая как повышенное давление или центробежная сила. Это может достигаться различными средствами, такими как маленькое отверстие, мембрана, заглушка, сужение, вкладыш, имеющий любую из нескольких конфигураций, или экран и любая их комбинация. В предпочтительном варианте исполнения барьер включает отверстие, имеющее диаметр, достаточно маленький, чтобы предотвратить проход жидкости из первой камеры во вторую камеру в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, в то же время обеспечивая возможность потока жидкости при повышенном давлении. Отверстие 1 расположено на верхушке конической части верхней камеры либо на вкладыше 2, как показано на фиг 1, 5 или 7, либо оно образовано как составная часть в верхней камере, как показано на фиг.6.

Отверстие может иметь любой диаметр,

который достаточно мал, так что поверхностное натяжение жидкости в верхней камере предотвратит поток из верхней камеры в нижнюю камеру в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, в то же время обеспечивая возможность преодоления поверхностного натяжения и, следовательно, способствуя проходу содержимого из верхней камеры в нижнюю камеру под действием повышенного давления или силы тяжести. Диаметр отверстия может изменяться в соответствии с величиной используемой силы, т.е. диаметр меньше, когда прилагаемая сила больше, и диаметр больше, когда прилагаемая сила меньше. Диаметр может также изменяться для соответствия частицам различного размера в реагентах. В предпочтительном варианте исполнения диаметр отверстия находится в диапазоне от 0,010 до 0,050 дюйма (0,025-0,13 см). В особенно предпочтительном варианте исполнения диаметр отверстия составляет 0,020 дюйма (0,05 см).

В другом варианте исполнения барьерное приспособление, разделяющее верхнюю и нижнюю камеры, включает спиральный вкладыш; такая спираль может иметь конфигурацию винтовой резьбы. Спираль является предпочтительно круглой или цилиндрической в диаметре, хотя овальная конфигурация также рассматривается. Как и отверстие, описанное выше, проход, обеспечиваемый стержнем, витками спирали и стенками камеры, имеет диаметр, достаточно маленький, чтобы предотвратить проход жидкости из верхней камеры в нижнюю камеру в условиях нормальной силы тяжести или атмосферного давления, в то же время обеспечивая возможность потока жидкости при воздействии увеличенной силы или давления. Еще одной функцией вкладыша является уменьшение возможности забрызгивания растворителя или раствора из нижней камеры в верхнюю камеру, и, таким образом, загрязнения верхней камеры. Такое забрызгивание может, например, происходить во время транспортировки или манипуляций. Спираль расположена в верхней камере на основании верхней камеры 3, как показано на фиг.11, или может быть спаяна в качестве составной части в таком положении с реакционным сосудом.

В случае, когда спиральный вкладыш отдельно вставляется в верхнюю камеру, вкладыш может отливаться из любого подходящего материала, который не будет мешать реакции агглютинации или отделению агглютинатов, или визуальной оценке результатов, такого, например, как стекло или пластик. Материал является предпочтительно пластиком, таким как, например, полипропилен, полиамиды, такие как нейлон, ацетальные смолы, такие как Delrin™ или Delrin P™, перекрестно связанные полистирол/дивинилбензол, такие как Rexolite™, поликарбонаты или полиэтилены. В предпочтительном варианте исполнения материалом является полипропилен.

Спираль может быть любой конфигурации, так, чтобы поверхностное натяжение жидкости в верхней камере предотвратило поток из верхней камеры в нижнюю камеру в условиях нормальной силы тяжести и

¤ U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

C 2 C 8 2 C 3 1 9 1 R U

атмосферного давления, в то же время обеспечивая возможность преодоления поверхностного натяжения и, следовательно, способствуя проходу содержимого из верхней камеры в нижнюю камеру под действием повышенного давления или силы тяжести. Например, шаг витков спирали может быть под любым углом, который обеспечит возможность прохода жидкости (например, содержащей клетки крови) в условиях повышенного давления из верхней в нижнюю камеру, в то же время препятствуя загрязнению верхней камеры жидкостью или матрицей из нижней камеры. Шаг может изменяться в соответствии с величиной используемой силы, т.е., меньшая площадь, обеспечиваемая стержнем спирали, витками и стенкой камеры, когда прикладывается большая сила, и большая площадь, когда прикладывается меньшая сила.

Конфигурация спирали также может изменяться для соответствия частицам различного размера в реагентах. Кроме того, вкладыш усиливает предотвращение забрызгивания содержимого колонки (растворителя или раствора, содержащего разделительную матрицу) в верхнюю камеру.

В исполнении спирального вкладыша изобретения количество витков спирали на дюйм и глубина витков спирали будут ограничиваться только эффективностью такой полученной в результате спирали в предотвращении загрязнения верхней камеры жидкостью из нижней камеры (на нижней границе диапазона), и способностью образца, например эритроцитов, проходить вниз по спирали под действием повышенного давления (на верхней границе диапазона). По причине возможного отказа и для облегчения продвижения эритроцитов и других агглютинатов, которые будут проходить через барьерное приспособление, предпочтительно, чтобы витки спирали, центральный стержень и стенки колонки, обеспечивающие проход, были относительно гладкими по структуре и полированными. Стенки резьбовой части спирального вкладыша, которые примыкают к стенкам колонки, могут быть острыми или плоскими.

В предпочтительном варианте исполнения и для использования в современной конфигурации кассеты BIOVUE™, которая включает шесть реакционных сосудов, спираль будет иметь приблизительно от 6 до приблизительно 30 витков спирали на дюйм (на 2,54 см), более предпочтительно, приблизительно от 12 до приблизительно 20 витков спирали на дюйм, а шаг витков спирали, измеренный в дюймах от верхушки одного витка спирали до верхушки следующего витка спирали, в диапазоне приблизительно от 0,033 до приблизительно 0,166 (0,08-0,42 см), более предпочтительно от 0,050 до приблизительно 0,083 дюйма (0,13-0,21 см).

Общий диаметр спирального вкладыша находится в диапазоне приблизительно от 0,110 до приблизительно 0,140 дюйма (0,28-0,38 см), более предпочтительно, приблизительно от 0,120 до приблизительно 0,130 дюйма (0,3-0,33 см).

Диаметр стержня спирального вкладыша находится в диапазоне от приблизительно 0,030 дюйма до приблизительно 0,090 дюйма (0,08-0,23 см), более предпочтительно,

приблизительно от 0,060 до приблизительно 0,080 дюйма (0,15-0,2 см). Ссылка дана на фиг.11, 12 и 13, описывающие примеры относительных конфигураций компонентов вкладыша. При ссылке на фиг.13 приблизительная конфигурация (в дюймах) может быть следующей (см. табл.А).

В качестве альтернативы круглому профилю спирального вкладыша, помещенного в модифицированную нижнюю часть верхней камеры, как показано на фиг. 11, здесь также предоставляется спираль овальной формы, которая может иметь аналогичную конфигурацию шага витков спирали. Как ранее описано для спирального вкладыша круглого профиля, овальное барьерное приспособление может принимать либо форму вкладыша, либо спиральной конструкции, отлитой единым блоком с камерами.

В качестве еще одной альтернативы, служенный проход между верхней и нижней камерами может быть обеспечен ультразвуковой сваркой колонки после ее загрузки реагентами. Альтернативно, барьер может включать диск или заглушку из пористого материала, расположенную на верхушке нижней камеры или колонки. Заглушка имеет форму цилиндра с размером, подходящим для помещения между верхней и нижней камерами, и приспособлена для задержки забрызгивания содержимого нижней камеры (например, реактива и разделительной матрицы) в верхнюю камеру. Пористая заглушка, кроме того, приспособлена для препятствования преждевременному прохождению образца (например, перед центрифугированием), но через которую образец пройдет под давлением, превышающим атмосферное (например, в условиях центрифугирования). Пористая заглушка изготовлена из любого материала, который не помешает реакции агглютинации или разделению, или любой зрительной оценке результатов, или не будет неспецифически связываться с любым их компонентом, например из стекла, а более точно просветленного стекла, или пластика, например полипропилена.

Другие подходящие барьеры могут принимать форму фланцев, фиксированных на спирали, ступенчато расположенных вокруг внутренней стенки камеры, или других аналогичных конструкций с извилистым каналом, которые будут функционировать, как описано выше, в плане предотвращения загрязнения содержимого верхней камеры. Барьер может также принимать форму кольцевого клапана или диафрагмы, помещенной в колонку. Такая диафрагма может, например, иметь центральное отверстие или перфорацию, и также радиальные лепестки от стенки колонки до центральной перфорации. После приложения силы диафрагма откроется, позволяя содержимому пробы пройти из верхней камеры в нижнюю камеру. Диафрагма будет изготовлена из любого подходящего материала, который не будет мешать реакции агглютинации или отделению, или любой зрительной оценке результатов.

Диафрагма будет изготовлена из любого подходящего гибкого, податливого материала, такого как, например, силиконовая резина.

RU 2191382 C2

Когда сосуд настоящего изобретения используется для проведения реакции агглютинации и отделения агглютинатов, реагенты и образец добавляются в верхнюю камеру для инкубации. Барьер задерживает образец и реагенты в верхней камере, пока происходит инкубация. В предпочтительном варианте исполнения, в котором барьер имеет отверстие, или в котором он представлен в форме спирального вкладыша, диаметр отверстия или конфигурация спирали, соответственно, достаточно мала, с тем, чтобы поверхностное натяжение жидкости и пробы поперек отверстия или спирали, задерживало содержимое в верхней камере в условиях действия нормальной силы тяжести и атмосферного давления. После достаточного времени инкубации на барьер воздействуют силой, прилагаемой любым из различных средств, таких как центрифugирование, давление или отсасывание, в направлении в основном вдоль оси от верхней камеры к нижней камере. Сила должна быть достаточной для преодоления барьера и обеспечения возможности прохода содержимого верхней камеры в нижнюю камеру. В предпочтительном варианте исполнения, при котором барьер имеет отверстие, или в котором барьераное приспособление включает спиральный вкладыш, поверхностное натяжение преодолевается силой, и содержимое стекает из верхней камеры в нижнюю камеру на разделительную матрицу.

Барьер также важен в обеспечении средства для уменьшения загрязнения верхней камеры растворителем или раствором из нижней камеры, которое может в противном случае произойти путем забрызгивания или других нарушений во время транспортировки и манипуляций.

Еще одним вариантом исполнения изобретения является прокладка, которая может быть вставлена в верхушку реакционного сосуда непосредственно перед добавлением образца. Такая прокладка включает корпус и один или предпочтительно множество элементов или ячеек, в зависимости от корпуса, причем такие ячейки имеют коническую или воронкообразную форму. Суженная верхушка ячейки, имеющая отверстие, при вставлении в кассету ориентирована по направлению внутрь сосуда, как показано на фиг.14 и 15. Прокладка может использоваться в сосудах, имеющих и не имеющих барьерные приспособления, такие как изгибы или вкладыши. В предпочтительном варианте исполнения, прокладка включает ячейку, имеющую отверстие с диаметром (1), достаточно маленьким для удержания образца, введенного в сосуд, до тех пор, пока сосуд не будет подвержен воздействию силы (например, путем центрифугирования), при условии, что время инкубации не увеличивается любым теплоизолирующими влиянием воздушного зазора между верхушкой и разделительной матрицей в колонке; или (2) достаточно большим, чтобы дать возможность введенному образцу свободно пройти в камеру реакционного сосуда, при условии, что тестирующая система может выдерживать ранний контакт с брызгами реагента. Ячейки прокладки предпочтительно имеют герметизирующее

приспособление, расположенное на расстоянии от суженной верхушки, например на ее наружных верхних частях, непосредственно ниже корпуса прокладки. В этом отношении сделаны ссылки на фиг.14 и 15. Герметизирующим приспособлением является возвышающееся кольцо, предпочтительно являющееся составной частью прокладки. Ячейка прокладки соответствует по размеру верхней камере сосуда, где происходит реакция, так, чтобы она не стала легко смещаемой во время обычных манипуляций. Возвышающееся кольцо или уплотнительное кольцо упрется в край вокруг сосуда на верхней поверхности кассеты, герметизируя, таким образом, контакт между прокладкой и кассетой. Возвышающееся кольцо или уплотнительное кольцо препятствует капиллярному действию любого содержимого колонки, забрызгиваемого из одной колонки в другую.

Как обсуждалось выше, при отсутствии вкладыша, которым снабжены сосуды, растворитель или раствор, содержащий разделительную матрицу, может попасть в верхнюю камеру во время транспортировки и манипуляций. В таком случае, и когда разделительная матрица может также содержать антитела или другие реагенты, которые будут непосредственно влиять на результаты теста, такое забрызгивание может привести к перекрестному загрязнению колонки реагентом из других колонок. Это может произойти, когда пользователь вставляет кончик пипетки в верхнюю камеру реакционного сосуда, загрязняя кончик разбрзганным реагентом, который может быть затем на пипетке перенесен в другой сосуд. Последнее может привести к ложным результатам количественного метода определения агглютинации.

Целью применения вкладыша является предотвращение перекрестного загрязнения реагентом из одного сосуда в следующий во время переноса пипеткой; этот реагент может забрызгиваться в верхнюю камеру во время транспортировки и манипуляций.

Прокладка может принимать форму одиночного конического элемента или ячейки для индивидуального помещения поверх каждого сосуда, где происходит реакция. Однако в предпочтительном варианте исполнения и со ссылкой на фиг.15 прокладка принимает форму одиночного блока, имеющего шесть таких конических ячеек, расположенныхных бок-о-бок, как составной части корпуса прокладки. Такая конфигурация позволяет помещать одиночный блок прокладки, содержащий шесть отдельных ячеек, поверх кассеты BIOVUE™ из шести реакционных сосудов.

Со ссылкой на фиг.14 и 15 каждая коническая ячейка прокладки имеет суженную заостренную верхушку с проходящим через нее отверстием. Поскольку сосуды BIOVUE™ представляются в виде кассеты, включающей шесть колонок, покрытых сверху уплотнительной прокладкой в виде полоски фольги, при ручном надавливании заостренные верхушки прокладки проколят уплотнительную прокладку из фольги над всеми шестью колонками. Проба (пробы) образца затем может быть перенесена пипеткой прямо в ячейки. Чистые ячейки прокладки таким образом свободны от любого

RU 2191382 C2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C

загрязняющего реагента или разделительной матрицы, которые в противном случае могут вступить в контакт с образцом и могут быть перенесены в другую колонку.

Прокладка удобно вставляется в колонки конечным пользователем вручную или с помощью снабженного зубцами инструмента. Для вставления шестиячечной прокладки в кассету BIOVUE™ фольга кассеты протыкается наконечниками прокладки, и прокладка полностью вставляется с помощью качательного движения. Использование снабженного зубцами инструмента помогает выравниванию прокладки и кассеты во время вставления. Поскольку корпус прокладки имеет для удобства такую же площадь и форму, как и верхняя поверхность кассеты, прокладка может удобно оставаться на месте во время обработки кассеты. Использование прокладок таким образом не мешает проведению количественного определения и не искажает его результаты (например, центрифугирование, свободное прохождение неагглютинированных эритроцитов через разделительную матрицу и вход агглютинированных эритроцитов в колонку). Однако колонки без уплотнительных колец не предотвращали перекрестное загрязнение колонок реагентом во время использования. Сравнительные функциональные тесты прокладок с уплотнительными кольцами и без них представлены в примерах 10 и 11. Представленные там результаты демонстрируют, что уплотнительные кольца предотвращают перекрестное загрязнение колонок реагентом, которое может происходить вследствие "капиллярного затекания" реагента между фольгой кассеты и прокладкой, что в результате ведет к потоку реагента по верхней части кассеты.

Прокладка и ее ячейки могут быть изготовлены из любого подходящего материала, который не помешает реакции агглютинации или отделению агглютинатов, такого как, например, стекло или пластик. Материал должен быть подходящим для протыкания уплотнительной прокладки из фольги на кассете. Для обеспечения возможности эффективной подачи пробы в верхнюю камеру из ячейки прокладки, предпочтительно, чтобы стенка ячейки прокладки была относительно гладкой по структуре и полированной. Материалом является предпочтительно пластик, такой как, например, полиэфирный пластик, ацеталь, акриловая смола, акрилонитрилбутадиенстирол (АБС), нейлон, поликарбонат, полиамид или полипропилен. В предпочтительном варианте исполнения материал является акриловой смолой.

В системе BIOVUE™ инкубация 10 мкл реагентных эритроцитов в 40 мкл сыворотки пациента совместно с 40 мкл раствора с низкой ионной силой происходит в верхней камере в течение 10 минут, чтобы позволить предполагаемым IgG антителам пациента связаться с поверхностным антигеном (антителами) эритроцитов. Эти компоненты количественного определения добавляются отдельно, и важно, чтобы они оставались в верхней камере с тем, чтобы они не могли смешаться, чтобы обеспечить постоянное соотношение между раствором с низкой ионной силой, эритроцитами и сывороткой от определения к определению. Барьер

способствует достижению этого в условиях нормальной силы тяжести и давления. Он также способствует снижению вероятности попадания под влиянием силы тяжести любого из компонентов количественного определения в нижнюю камеру во время добавления образца. Барьер также обеспечивает возможность для компонентов количественного определения оставаться в верхней камере в течение периода инкубации.

Барьер также важен для предотвращения преждевременного связывания анти-IgG антител человека с предположительными антиэритроцитарными антителами в сыворотке пациента перед тем, как они связались с эритроцитами, снижая вероятность агглютинации, происходящей в конечном счете в нижней камере. После инкубации прилагается центробежная сила для передвижения содержимого верхней камеры через барьер в нижнюю камеру, которая содержит анти-IgG антитела человека, которые связываются с IgG пациента на поверхности реагентных эритроцитов, вызывая образование агглютинатов, которые не проходят через матрицу на дно нижней камеры.

Следующие примеры приводятся только в целях иллюстрации, а не в форме ограничения сферы притязаний изобретения.

#### Пример 1

Колонки BIOVUE™ с вкладышами сравнивают с колонками без вкладышей для определения эффективности каждой конструкции в поддержании воздушного пространства, которое отделяет реагенты от разделительной матрицы во время периода инкубации. Используют вкладыши, имеющие отверстие размером 0,040 дюйма (0,1 см). 40 мкл Буферного раствора добавляют в каждую из 840 используемых колонок. Для подачи 40 мкл используют ручную пипетку, которую держат под углом приблизительно 45° к вертикальной оси колонки. Затем проводят наблюдение за колонками для определения того, сохраняется ли воздушное пространство ниже реакционной камеры. Количество "прорывов" представлено в таблице 1.

#### Пример 2

Реагенты также добавляют в колонки (с вкладышами и без вкладышей) и инкубируют в течение 10 минут при 37°C. 40 мкл Буфера, 40 мкл сыворотки и 10 мкл супензии эритроцитов добавляют в каждую из 480 используемых колонок. Для подачи реагентов используют пипетку, удерживаемую под углом приблизительно 45°. После периода инкубации колонки осматривают для определения того, сохраняется ли воздушное пространство ниже реакционной камеры. Частота "прорывов" представлена в таблице 2.

#### Пример 3

Колонки заполняют 40 мкл буфера с помощью автоматической пипетки, удерживаемой под углом приблизительно 45°. Обычно автоматические пипетки обеспечивают подачу с большей силой, чем модели с ручным приводом. Оценку проводят после заполнения для определения того, сохраняется ли воздушное пространство ниже реакционной камеры. Результаты в колонках с вкладышами и без вкладышей представлены в таблице 3.

#### Пример 4

R U ? 1 9 1 3 8 2 C 2

RU 2191382C2

C2 C8 2 C1 9 1 3 RU

240 колонок заполняют 40 мкл буфера с помощью одной пипетки, удерживаемой вертикально. При вертикальном расположении пипетки жидкость проталкивается через отверстие под более высоким давлением, и, следовательно, выше вероятность нарушения воздушного пространства, отделяющего реакционную камеру от разделительной камеры. Результаты этого эксперимента представлены в таблице 4.

#### Пример 5

Реакционные камеры 240 колонок также заполняют 40 мкл буфера с помощью автоматической пипетки, удерживаемой вертикально, что повышает вероятность нарушения воздушного пространства ниже реакционной камеры по сравнению с тем, когда автоматическую пипетку удерживают под углом. Результаты этих испытаний с использованием колонок с вкладышами и колонок без вкладышей представлены в таблице 5.

#### Пример 6

В дополнение к поддержанию воздушного пространства между реакционной камерой и разделительной матрицей во время стадии инкубации испытания, изобретение также функционирует как средство предотвращения забрызгивания, которое может произойти во время транспортировки и манипуляций, при котором часть содержимого нижней разделительной камеры может забрызгиваться в верхнюю реакционную камеру. Для испытания эффективности предотвращения забрызгивания кассеты с вкладышами и без вкладышей были доставлены из Нью Джерси в Калифорнию и обратно. Перевозку проводили по воздуху и по земле, включая погрузку, разгрузку и доставку в лабораторию. Использованный способ был обычным для этой технологической линии. После обратной перевозки кассеты обследовали на присутствие жидкости, попавшей вследствие забрызгивания в реакционные камеры. Результаты представлены в таблице 6.

#### Пример 7

Дополнительное исследование транспортировки проводят для испытания уменьшения забрызгивания с помощью вкладышей, имеющих отверстия уменьшающиеся размера. Отверстия между реакционной камерой и разделительной матрицей имеют диаметр 0.025, 0.020 и 0.015 дюйма (0.06, 0.05, 0.04 см). В 600 колонок помещают каждый из этих вкладышей. В контроле вкладышей нет. Кассеты упаковывают и подвергают исследованию в виде имитационной транспортировки в помещении, при которой ящик сбрасывают 10 раз с высоты 3 фута (0.91 м). Угол падения ящика контролируют таким образом, чтобы контейнер падал на все шесть его плоских поверхностей, а также на один угол и на три края. Это стандартизованное испытание представляет наихудший случай транспортировки и манипуляций. Результаты, представленные в таблице 7, показывают обратную зависимость между размером отверстия и уменьшением забрызгивания.

#### Пример 8

Еще одним средством, с помощью которого отверстие между реакционной камерой и разделительной камерой под ней

может быть уменьшено, является "гофрирование" кассеты. Это может быть достигнуто прессованием ударным выдавливанием, при котором на шейку кассеты непосредственно ниже реакционной камеры воздействуют ударной силой. Сила и продолжительность удара определяет степень, до которой уменьшается отверстие. Форма ударного инструмента определяет форму отверстия. Возможно несколько конфигураций. Процесс "гофрирования" может осуществляться в технологической линии после того, как колонки загружаются реагентами и стеклянными бусинами.

816 Колонок из производственной линии гофрировали, как описано выше, с целью сужения отверстия между реакционной камерой и разделительной матрицей. Изгиб дает в результате форму поперечного сечения, показанную на фиг.10, через область, показанную скобкой на фиг.9. Эти колонки наряду с 768 негофрированными контрольными колонками упаковали и перевезли в Калифорнию и обратно, как описано ранее. Уменьшение забрызгивания в реакционные камеры, вызванное условиями транспортировки, представлено в таблице 8.

#### Пример 9

Барьерное средство в виде спирального вкладыша может использоваться для ограничения размера отверстия между реакционной (верхней) камерой и разделительной (нижней) камерой. Спиральный вкладыш отливают из полипропилена и вставляют в шейку кассеты непосредственно ниже модифицированной верхней камеры. Спиральный вкладыш помещают в шейку кассеты во время процесса производства после того, как колонки были загружены реагентами и разделительной матрицей (например, стеклянными бусинами).

#### Пример 10

Колонки BIOVUE<sup>TM</sup> с прокладками, имеющими уплотнительные кольца, сравнивали с колонками с прокладками без уплотнительных колец для определения того, предохраняют ли уплотнительные кольца от перекрестного загрязнения колонок реагентом.

Кассеты подвергали имитационной транспортировке для создания забрызгивания в верхнюю камеру и на фольгу путем постукивания или ударов кассеты о твердую рабочую поверхность.

Исследовали 192 кассеты с прокладками, не имеющими уплотнительных колец, на наличие капиллярного затекания после вставления в колонки кассеты. Половина прокладок (98) вставлялась в кассеты вручную, а другая половина - с помощью снаженного двумя зубцами инструмента, обсужденного выше.

Исследовали 336 кассет с прокладками, имеющими уплотнительные кольца, на наличие капиллярного затекания, как указано выше. Половина прокладок (168) вставлялась в кассеты вручную, а 168 вставлялись с помощью снаженного двумя зубцами инструмента.

Капиллярное затекание в колонки оценивают визуально путем осмотра верхней стороны кассеты. Капиллярное затекание определяют при обнаружении жидкости реагента между покровной фольгой кассеты и

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

пространством под корпусом прокладки.

В таблице 9 представлено количество и процент кассет с капиллярным затеканием по отношению к общему количеству испытанных кассет. Способ вставления прокладки не влиял на результаты при использовании прокладки, имеющей уплотнительное кольцо, но влиял на результаты при использовании прокладки без уплотнительного кольца. Как показано, количество кассет с затекшим реагентом, когда прокладки вставляются вручную (кассеты в перевернутом положении), почти вдвое превышает количество таких кассет при вставлении прокладок с использованием инструмента (кассеты в нормальном вертикальном положении).

#### Пример 11

Кассеты с прокладками, не имеющими уплотнительных колец, сравнивали в функциональном испытании с кассетами, имеющими уплотнительные кольца.

Кассеты подвергают имитационной транспортировке для создания забрызгивания реагента в верхнюю камеру и на фольгу, как описано в примере 10.

Прокладки вставляют в колонки кассеты как вручную, так и с помощью инструмента с двумя зубцами, как описано выше. В половину кассет в каждую колонку вносят 10 мкл 4%-ной суспензии эритроцитов (в физиологическом растворе) с помощью пипетки BIOVUE™ BioHit (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, NJ). В колонки другой половины кассет вносят пипеткой 50 мкл 0.8%-ной суспензии эритроцитов (в физиологическом растворе), имеющих поверхностный антиген, как показано ниже в таблице 10. В половине испытуемых кассет используют кассету Ortho BIOVUE™ ABE International (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, NJ); в другой половине испытуемых кассет используют кассету BIOVUE™ RHK (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, NJ). Кассеты ABE и RHK подготавливают с антителами в соответствующих колонках, как показано ниже в таблице 10.

При использовании кассет ABE в качестве образца используют клетки A<sub>1</sub> гг. При использовании кассет RHK в качестве образца используют клетки R<sub>1</sub> R<sub>1</sub> (-). Пилотирование проводят, начиная с самой крайней слева колонки кассеты и продвигаясь вправо. Кассеты центрифугируют в центрифуге Ortho BIOVUE™ (Ortho Diagnostic Systems Inc., Raritan, NJ); в течение 2 минут при (794±16)xg, затем в течение 3 минут - при (1510±30)xg. Каждую колонку с отрицательной реакцией (отсутствие агглютинации эритроцитов) оценивают на полноту свободного прохождения эритроцитов через всю колонку. Ложно положительная реакция произойдет, если, например, анти-А антитело из колонки 1 кассеты ABE переносится в колонку 2, и теперь клетки вступают в реакцию в колонке 2.

Результаты показаны в таблице 11. В колонках с уплотнительным кольцом все ожидаемые положительные реакции были положительными. Однако все ожидаемые отрицательные реакции не были отрицательными. Был один ложно

положительный результат. Причиной этого, хотя она не установлена, было не капиллярное затекание реагента.

В таблице 11 представлено количество и процент кассет и колонок с ложно положительной реакцией по отношению к общему количеству испытанных кассет. Способ вставления прокладки не влиял на результаты при использовании прокладки с уплотнительными кольцами, но косвенно влиял на результаты при использовании прокладки без уплотнительных колец, потому что все ложно положительные результаты были в кассетах с видимым затеканием реагента.

#### Формула изобретения:

1. Сосуд для проведения количественного определения агглютинации, содержащий верхнюю камеру, имеющую отверстие для приема жидких реагентов, нижнюю камеру, расположенную для приема жидкости из верхней камеры и содержащую матрицу для отделения агглютинатов, барьер, отделяющий верхнюю камеру от нижней камеры и имеющий приспособление для задержки жидкости в верхней камере в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, при этом барьер имеет возможность обеспечивать проход жидкости из верхней камеры в нижнюю камеру под действием давления, превышающего атмосферное давление, отличающийся тем, что указанный барьер содержит спиральную конструкцию, имеющую проход, образованный витками спирали, центральным стержнем и стенками колонки, выполненный с возможностью задержки жидкости в верхней камере в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления.
2. Сосуд по п.1, отличающийся тем, что спиральная конструкция выполнена в виде спирального вкладыша.
3. Сосуд для проведения количественного определения агглютинации, содержащий верхнюю реакционную камеру, имеющую отверстие для приема жидких реагентов, отличающийся тем, что содержит отверстие, определяемое спиральным вкладышем, выполненным с возможностью задерживать жидкость в указанной верхней реакционной камере против действия силы тяжести и атмосферного давления, и нижнюю камеру, сообщающуюся с верхней камерой через спиральный вкладыш и которая содержит матрицу для отделения агглютинатов.
4. Сосуд по п.3, отличающийся тем, что спиральный вкладыш изготовлен из полипропилена или рексолита.
5. Сосуд для проведения количественного определения агглютинации, содержащий первую камеру для приема и удержания жидкого образца и реагентов, вторую камеру, сообщающуюся с первой камерой для приема жидкости из первой камеры и которая содержит матрицу для отделения агглютинатов, барьер, разделяющий указанные первую и вторую камеры, способный предотвратить проход жидкости из первой камеры во вторую камеру в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, в то же время позволяя жидкости проходить из первой камеры во вторую камеру под действием давления, превышающего атмосферное давление,

R U ? 1 9 1 3 8 2 C 2

отличающийся тем, что указанный барьер содержит спиральный вкладыш.

6. Сосуд по п.5, отличающийся тем, что диаметр спирального вкладыша находится в диапазоне 0,28-0,36 см.

7. Сосуд по п.5, отличающийся тем, что диаметр спирального вкладыша находится в диапазоне 0,08-0,23 см.

8. Сосуд по п.5, отличающийся тем, что спиральный вкладыш имеет от 6 до 30 витков спирали на 2,54 см.

9. Сосуд для проведения количественного определения агглютинации, включающий верхнюю камеру, имеющую отверстие для приема жидких реагентов, нижнюю камеру, расположенную для приема жидкости из верхней камеры и содержащую матрицу для отделения агглютинатов, барьер, отделяющий верхнюю камеру от нижней камеры и имеющий приспособление для задержки жидкости в верхней камере в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, при этом барьер имеет возможность обеспечивать проход жидкости из верхней камеры в нижнюю камеру под действием давления, превышающего атмосферное давление, отличающийся тем, что указанный барьер содержит диафрагму с центральной перфорацией с размерами, позволяющими задерживать жидкость в верхней камере в

условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления.

10. Сосуд по п.9, отличающийся тем, что диафрагма изготовлена из силиконовой резины.

11. Сосуд для проведения количественного определения агглютинации, содержащий верхнюю камеру, имеющую отверстие для приема жидких реагентов, нижнюю камеру, расположенную для приема жидкости из верхней камеры и содержащую матрицу для отделения агглютинатов, барьер, отделяющий верхнюю камеру от нижней камеры и имеющий приспособление для задержки жидкости в верхней камере в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления, при этом барьер имеет возможность обеспечивать проход жидкости из верхней камеры в нижнюю камеру под действием давления, превышающего атмосферное давление, отличающийся тем, что указанный барьер содержит пористую заглушку со сквозными каналами, выполненные с возможностью задержки жидкости в верхней камере в условиях нормальной силы тяжести и атмосферного давления.

12. Сосуд по п.11, отличающийся тем, что пористая заглушка изготовлена из полипропилена.

30

35

40

45

50

55

60

Таблица А

Витки спирали на дюйм	Размер 3	Размер 6
12	0,083	0,020
14	0,070	0,020
16	0,060	0,015

Таблица 1

	Количество тестов	Количество прорывов	Процент прорывов
Колонки с вкладышами	840	0	0%
Колонки без вкладышей	840	231	27,5%

Таблица 2

	Количество тестов	Количество прорывов	Процент прорывов
Колонки с вкладышами	840	0	0%
Колонки без вкладышей	840	16	3,3%

Таблица 3

	Количество тестов	Количество прорывов	Процент прорывов
Колонки с вкладышами	240	0	0%
Колонки без вкладышей	240	103	43 %

Таблица 4

	Количество тестов	Количество прорывов	Процент прорывов
Колонки с вкладышами	240	0	0%
Колонки без вкладышей	240	144	60%

Таблица 5

	Количество тестов	Количество прорывов	Процент прорывов
Колонки с вкладышами	240	0	0%
Колонки без вкладышей	240	204	85%

Таблица 6

	Количество тестов	Количество колонок с брызгами	Процент колонок с брызгами
Колонки с вкладышами	816	30	3,7%
Колонки без вкладышей	768	571	74,3%

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

Таблица 7

	Количество тестов	Количество колонок с брызгами	Процент колонок с брэзгами
Колонки с вкладышами 0,015	600	75	13%
Колонки с вкладышами 0,020	600	120	20%
Колонки с вкладышами 0,025	600	132	22%
Колонки без вкладышей	600	600	100%

Таблица 8

	Количество тестов	Количество камер с брызгами	Процент камер с брэзгами
Колонки с изгибами	816	548	67%
Колонки без изгибов	768	571	74%

Таблица 9

Способ вставления прокладки	Прокладки без уплотнительных кольец	Прокладки с уплотнительными кольцами
Инструмент	39/96 (40,6%)	0/168
Ручной	74/96 (77,1%)	0/168

RU 2191382 C2

RU ? 191382 C2

Таблица 10

RU 2191382 C2

## КАССЕТА АВЕ

колонка	антитело	ожидаемый результат с	
		клетками A1 rr	
1	анти-А	+	
3	анти-AB	+	
4	анти-D	-	
5	анти-CDE	-	
6	контроль (растворитель)	-	

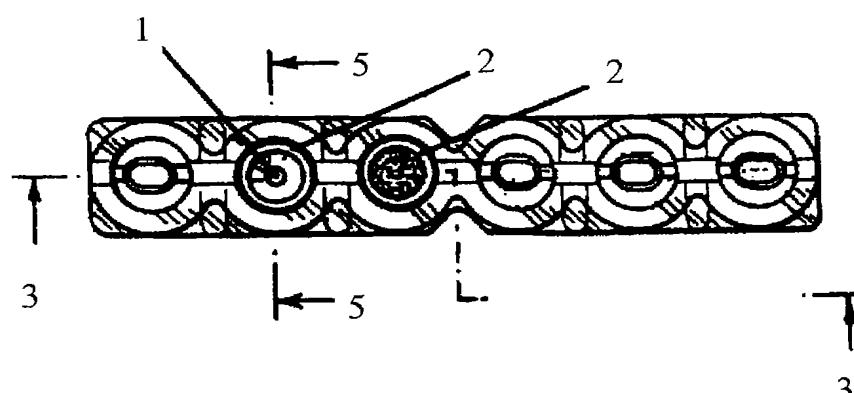
## КАССЕТА RHK

колонка	антитело	ожидаемый результат с	
		клетками R1 R1 K (-)	
1	анти-С	+	
2	анти-Е	-	
3	анти-с	-	
4	анти-е	+	
5	анти-К	-	
6	контроль (растворитель)	-	

RU 2191382 C2

Таблица 11

Способ вставления прокладки	Прокладка без уплотнительных колец	Прокладка с уплотнитель- ными кольцами
Инструмент (нормальное вертикаль- ное положение)	Кассеты   1/96 (1%) Колонки   1/384 (0,3%)	1/96 (1%) 1/384 (0,3%)
Ручной (перевернутое положе- ние)	Кассеты   9/96 (10%) Колонки   10/384 (2,6%)	0/96 0/384
Всего	Кассеты   10/192 (5,2%) Колонки   11/768 (1,4%)	1/192 (0,5%) 1/768 (0,1%)

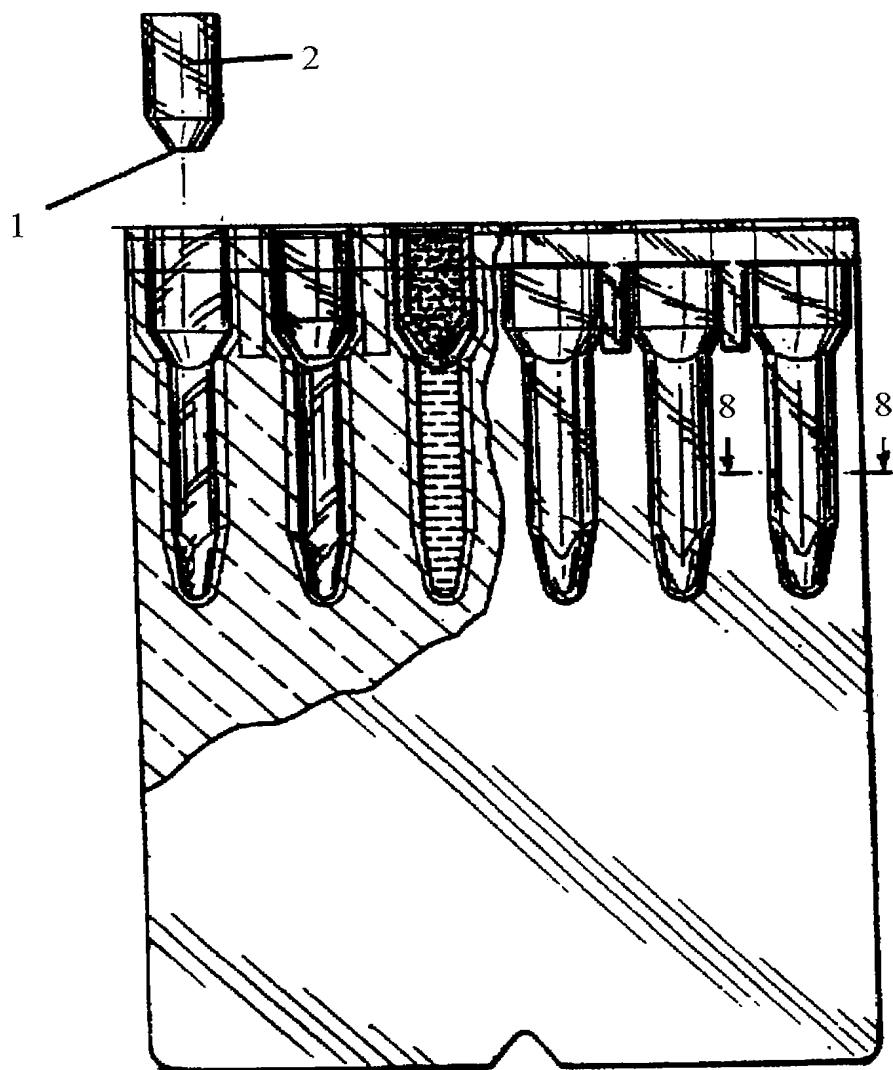


Фиг.2

RU 2191382 C2

RU 2191382 C2

РУ 2191382 С2



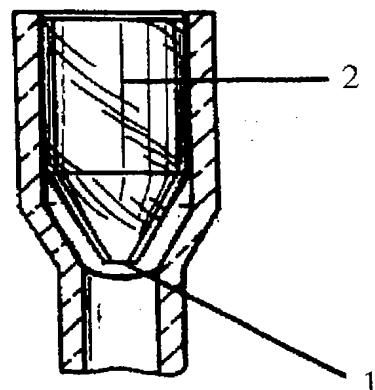
Фиг.3

РУ 2191382 С2

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2



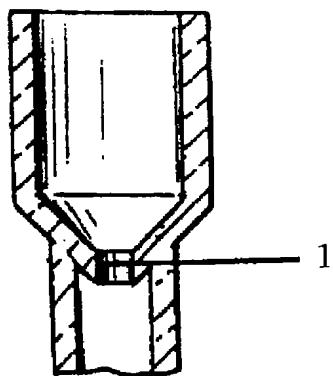
Фиг.4



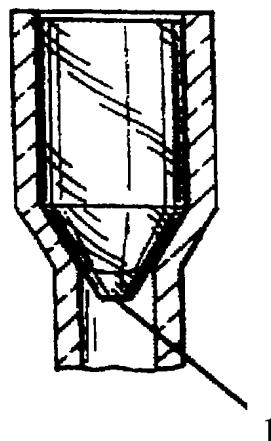
Фиг.5

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

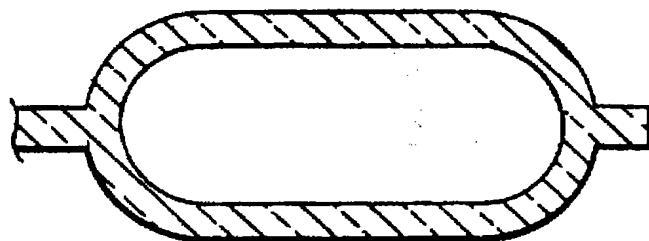
Р У ? 1 9 1 3 8 2 С 2



Фиг.6



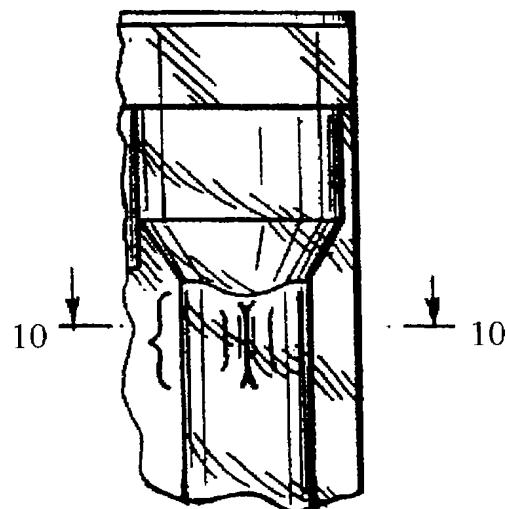
Фиг.7



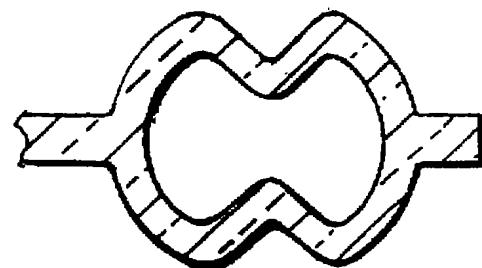
Фиг.8

Р У 2 1 9 1 3 8 2 С 2

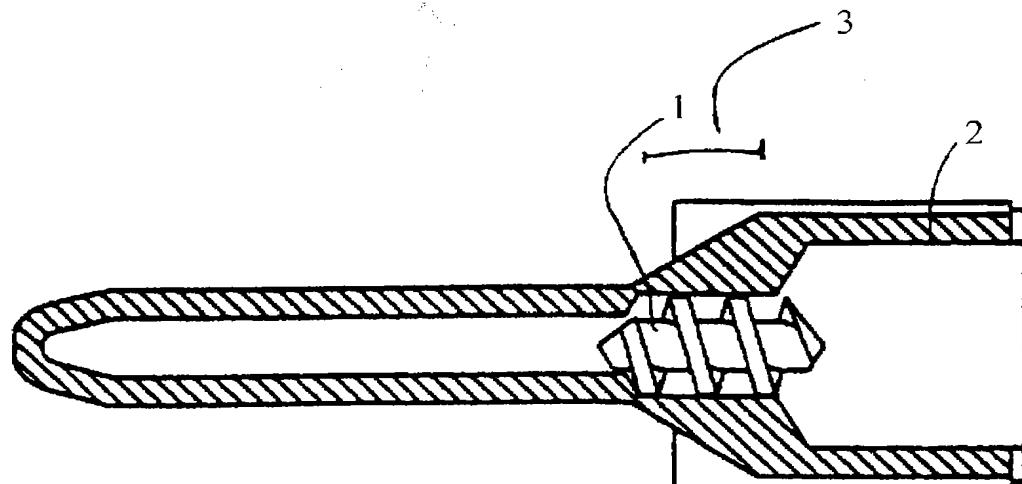
RU 2191382 C2



Фиг.9



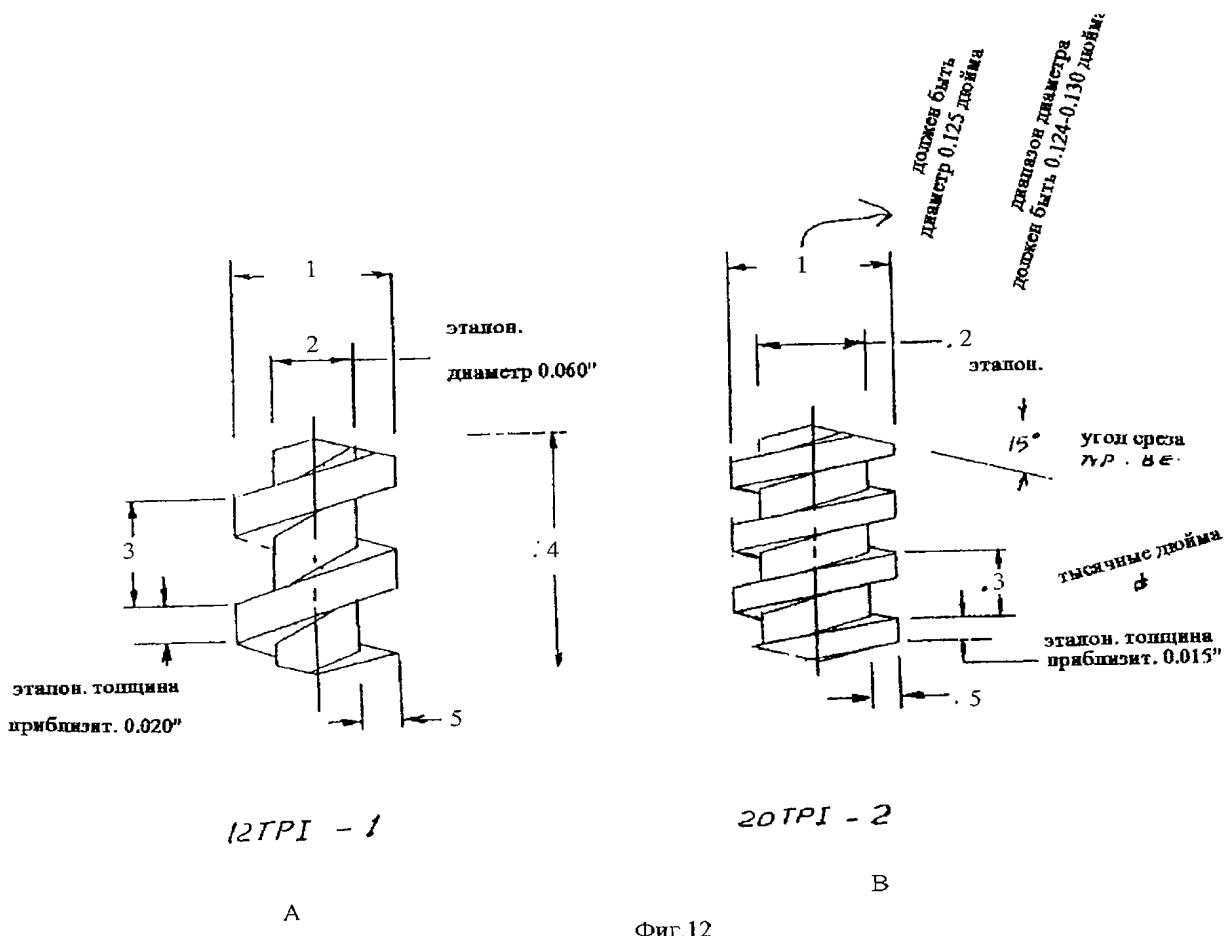
Фиг.10



Фиг.11

RU 2191382 C2

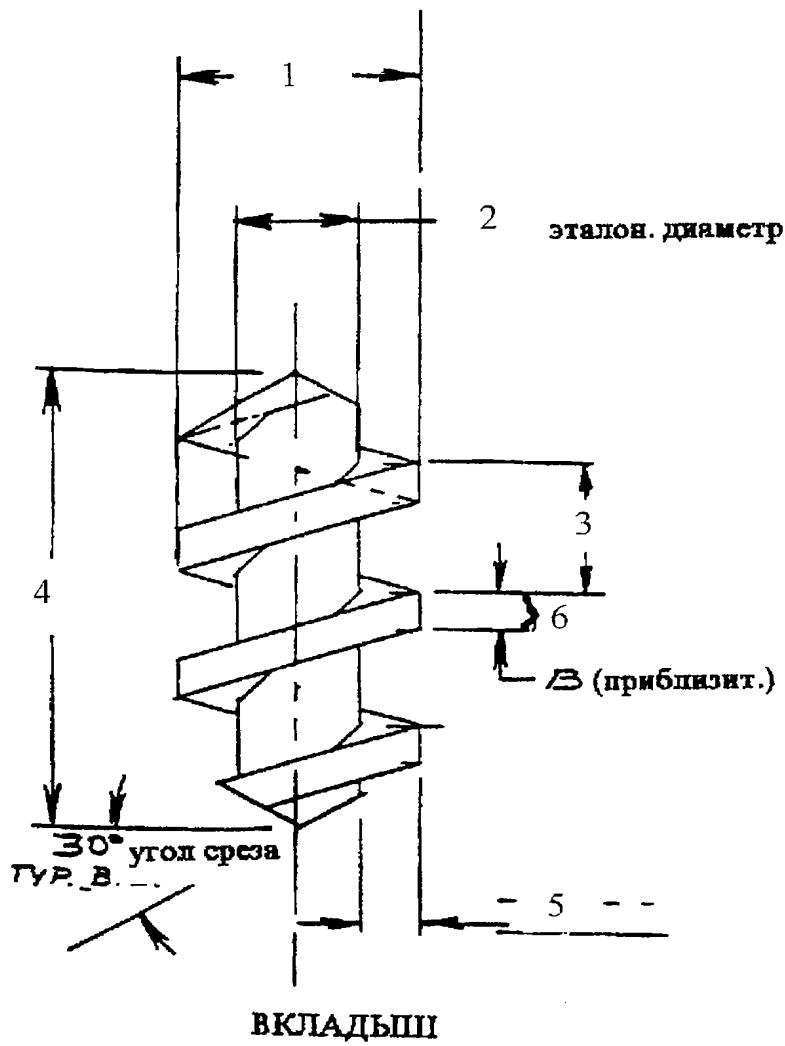
R U ? 1 9 1 3 8 2 C 2



Фиг. 12

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

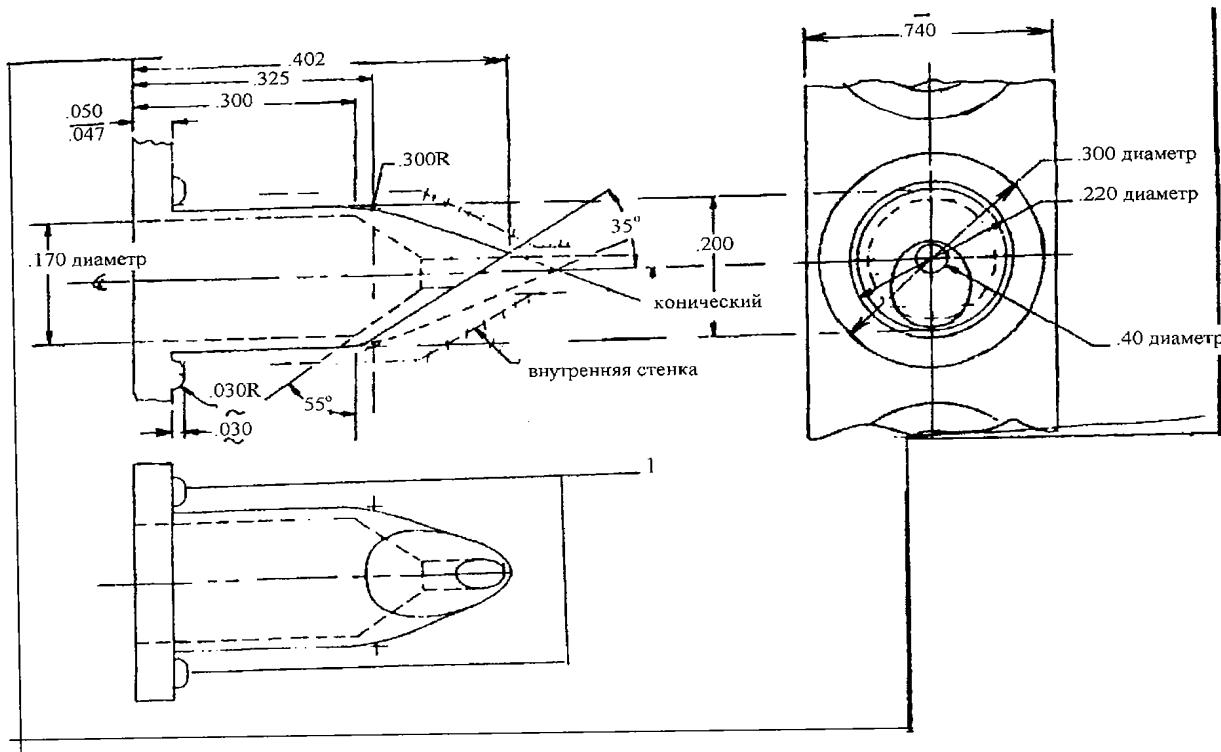
R U ? 1 9 1 3 8 2 C 2



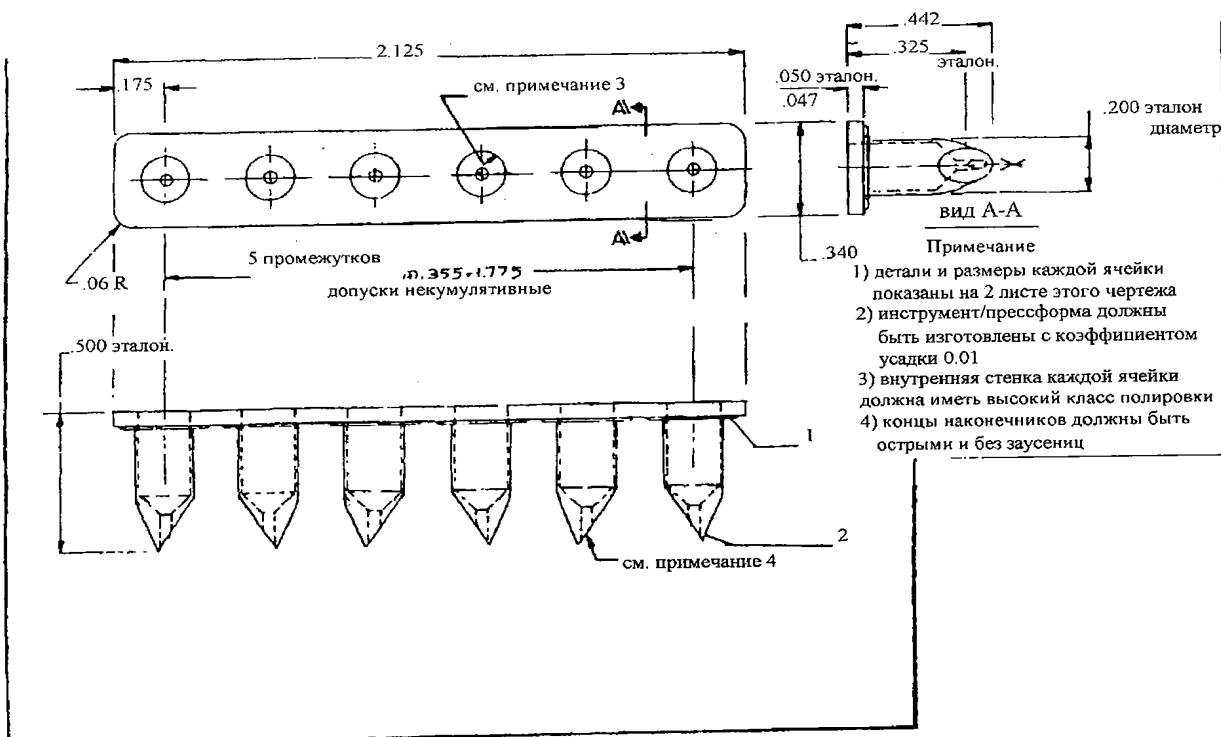
Фиг.13

R U 2 1 9 1 3 8 2 C 2

RU 2191382 C2



Фиг.14



Фиг.15

RU 2191382 C2